

Kepadatan CD8 di Lingkungan Mikrotumor pada Subtipe *Diffuse Large B Cell Lymphoma*

¹Indah Yunalda, ¹Krisna Murti, ¹Aida Farida, ¹Ika Kartika, ²Erial Bahar

¹Departemen Patologi Anatomi, ²Departemen Anatomi
 Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya, Rumah Sakit Mohammad Hoesin
 Palembang

Penulis Korespondensi: dr. Krisna Murti, SpPA, M.Biotech., Stud., PhD.
 Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya
 Rumah Sakit Mohammad Hoesin
 Jl. Jend. Sudirman Km 3.5, Palembang 30126
 Email: krisna.arinafril@unsri.ac.id naldacantik@gmail.com

ABSTRAK

Latar belakang

Diffuse Large B Cell Lymphoma (DLBCL) terbagi atas dua subtipe yaitu GCB dan non-GCB, yang ditentukan berdasarkan algoritme Hans, di mana subtipe GCB memiliki prognosis yang lebih baik dibanding non-GCB. Saat ini beberapa penelitian menunjukkan bahwa perkembangan tumor dapat dipengaruhi oleh lingkungan mikrotumor, di antaranya adalah TILs CD8⁺ yang berada di sekitar sel-sel tumor maupun di perifer. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kepadatan TILs CD8⁺ pada lingkungan mikrotumor di kedua subtipe DLBCL.

Metode

Telah dilakukan penelitian *cross sectional* pada kasus DLBCL yang di registrasi di Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya/RSUP Dr. Moh. Hoesin Palembang dari 1 Oktober 2017 sampai 31 Desember 2018, berjumlah 40 sampel. Semua sampel dipulas menggunakan antibodi anti-CD8, kemudian dilakukan penilaian pada ekspresi CD8 pada sel-sel limfosit di sekitar sel-sel tumor dan di perifer. Kepadatan TILs CD8⁺ di kedua lokasi tersebut pada masing-masing subtipe DLBCL dianalisis uji *Mann Whitney U Test*

Hasil

Pada penelitian ini, non-GCB merupakan subtipe DLBCL terbanyak (72.5%) dan didominasi oleh usia muda yaitu 75% kasus. Secara signifikan, kepadatan TILs CD8⁺ di perifer lebih tinggi dibanding TILs CD8⁺ yang berada di sekitar sel-sel tumor, baik pada subtipe GCB (p=0.003) dan non-GCB (p=0.000).

Kesimpulan

Pada kedua subtipe, kepadatan TILs CD8⁺ lebih tinggi di perifer dibanding di sekitar sel-sel tumor dan kepadatan yang tinggi di sekitar sel-sel tumor akan diikuti peningkatan kepadatan CD8 di perifer.

Kata kunci: DLBCL GCB, DLBCL non-GCB, TILs CD8

Density of CD8 in Tumor Microenvironment of Diffuse Large B Cell Lymphoma Subtypes

ABSTRACT

Background

Diffuse Large B Cell Lymphomas (DLBCL) is divided into two subtypes, GCB and non-GCB, which are determined based on Hans's algorithm. The GCB subtype has a better prognosis than non-GCB. Some studies indicate that the tumor progression was influenced by tumor microenvironment, including CD8⁺ TILs located both surrounding tumor cells and peripheral. This study aims to determine the density of CD8⁺ TILs in the tumor microenvironment of DLBCL subtypes.

Methods

A Cross sectional study of 40 samples of DLBCL registered to Department of Anatomical Pathology Faculty of Medicine Universitas Sriwijaya/Dr. Mohammad Hoesin Palembang Hospital from 1st October 2017 to 31st December 2018. All samples were stained using anti-CD8 antibody, afterward, lymphocytes express CD8 were assessed both in surrounding tumor cells and peripheral. The density of CD8 in each DLBCL subtype was analyzed statistically using Mann Whitney U Test.

Results

In this study, non-GCB subtype was found higher in comparison to GCB subtype (72.5%) and the samples was dominated by young ages (75%). Significantly, peripheral CD8 density was higher than that of surrounding tumor cells, both in the GCB (p=0.003) and non-GCB subtypes (p=0.000).

Conclusion

In both subtypes, CD8 density is higher in peripheral than surrounding tumor cells and a high density in surrounding tumor cells will be followed by an increase in peripheral CD8 density.

Key word: DLBCL, CD8, GCB, non-GC.

PENDAHULUAN

Jenis limfoma non-Hodgkin (NHL) terbanyak adalah *Diffuse large B cell Lymphoma* (DLBCL), yaitu sekitar 30-40% kasus dan setiap tahunnya mengalami peningkatan baik pada pria maupun wanita.¹⁻² Limfoma jenis ini umumnya terjadi pada usia dewasa diatas 60 tahun dengan jenis kelamin laki-laki sedikit lebih sering dibanding wanita.²

Berdasarkan algoritme Hans, DLBCL terbagi atas dua subtipe yaitu GCB (*germinal center type*) dan non-GCB (*non germinal center*).^{3,4} Prognosis di antara kedua subtipe ini berbeda, di mana subtipe GCB memiliki prognosis yang lebih baik dibanding subtipe non-GCB, yaitu dengan *5-year survival* sekitar 76% dan 16%.^{1,5} Saat ini R-CHOP merupakan standar terapi untuk kasus DLBCL baik pada subtipe GCB dan non-GCB, namun sekitar 30% kasus tidak respon terhadap regimen ini, sehingga diperlukan tambahan regimen terapi yang berbeda pada masing-masing subtipe.⁶

Lingkungan mikrotumor merupakan hasil interaksi antara tumorigenesis dan respon host terhadap tumorigenesis tersebut, yaitu interaksi antara sel-sel tumor, sel imun, dan sel-sel stromal yang berhubungan dengan kanker.⁷ *Tumor infiltrating lymphocytes* (TILs) adalah sel darah putih, yang termasuk di antaranya adalah sel T, sel B, atau sel *natural killer*, yang mengenali sel tumor dan menyebabkan respon imun TILs dan berpenetrasi ke pulau tumor (intrapitelial) dan bahkan di peritumoral (stromal). Sistem imun terutama TILs intraepitelial biasanya memiliki peranan untuk mengendalikan pertumbuhan tumor terutama seluruh tumor solid.⁸

CD8 adalah glikoprotein transmembran yang terekspresi pada permukaan sel T sitotoksik. Beberapa penelitian terhadap kanker menunjukkan bahwa sel T yang mengekspresikan CD8 (CD8⁺) dapat menghambat pertumbuhan tumor, menekan infiltrasi tumor dan mengeliminasi tumor. Penggunaan imunohistokimia CD8 memiliki peran penting dalam menilai respon imun terhadap kanker. Sebagai contoh, jumlah TILs CD8⁺ digunakan sebagai penanda prognostik untuk sejumlah kanker, misalnya pada kanker kolon dan *non small cell lung carcinoma* (NSCLC). Selain itu, penghitungan TILs CD8⁺ juga dapat membantu dalam menilai respon terhadap imunoterapi.⁹

Fungsi anti tumor sel T CD8⁺ sangat tergantung pada dua faktor penting, yaitu diferensiasi sel T CD8⁺ dan infiltrasi sel T CD8⁺ ke lingkungan tumor. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa terdapat hubungan antara peningkatan sel T CD8⁺ di lingkungan mikrotumor yang mana peningkatan sel T CD8⁺ berhubungan dengan prognosis baik pada berbagai tipe kanker.¹⁰ Beberapa regimen imunoterapi kanker menunjukkan efektivitas dari sel T CD8⁺ sebagai anti tumor.⁷

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui kepadatan CD8 di dalam lingkungan mikrotumor pada subtipe GCB dan non-GCB DLBCL di Departemen Patologi Anatomi RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian observasional analitik dengan disain potong lintang terhadap sediaan yang telah didiagnosis dan ditelaah ulang sebagai *Diffuse Large B Cell Lymphoma* di Departemen Patologi Anatomi Rumah Sakit Dr. Mohammad Hoesin Palembang periode 1 Oktober 2017 sampai 31 Desember 2018.

Sampel penelitian adalah arsip preparat hematoksilin dan eosin dan blok parafin/*formalin fixed paraffin embedded* (FFPE) yang telah dilakukan pemeriksaan dengan penanda CD20 positif, BCL6 dan MUM1 positif, serta nilai indeks proliferasi Ki-67 \geq 40% dengan perhitungan kualitatif. Pengambilan sampel dilakukan dengan menggunakan metode *convenience sampling* dan didapatkan 40 sampel.

Sampel penelitian kemudian dilakukan pulasan imunohistokimia CD8 (*Mouse monoclonal, clone 144B, Abcam RTU code ab75129*) dan diinkubasi selama 1 jam di dalam *humidity chamber* pada suhu ruangan.

Ekspresi CD8 terpulas pada membran dan sitoplasma sel, diamati secara semikuantitatif dengan mikroskop cahaya binokuler merek Olympus tipe BX51. Penilaian awalnya dilakukan dengan pembesaran lemah (40x) untuk memilih area dengan densitas yang tinggi yaitu 5 area di sekitar sel-sel tumor dan 5 area perifer. Selanjutnya masing-masing area tersebut diperiksa dengan pembesaran kuat (400x) dan dihitung jumlah sel yang positif tanpa memperhatikan intensitas pulasan dengan menggunakan aplikasi *Image J* dan dibagi 5 untuk menentukan nilai mean.

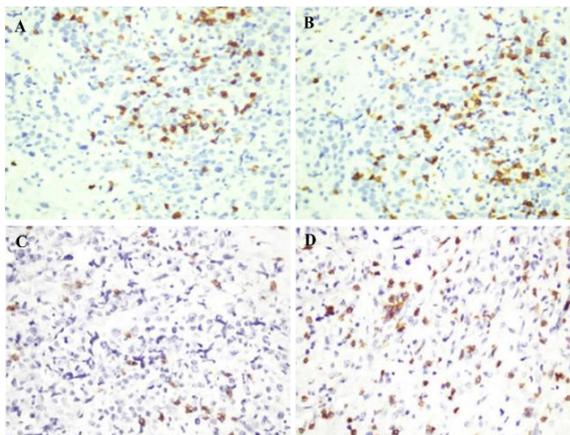
Data dianalisis menggunakan SPSS versi 23.0. Untuk mengetahui korelasi karakteristik klinikopatologik terhadap subtipe DLBCL digunakan *Chi Square Test* dengan nilai $p < 0,05$ dianggap bermakna. Sedangkan *Mann Whitney U Test* digunakan untuk mengetahui distribusi kepadatan CD8 di antara subtipe DLBCL, dimana nilai p dianggap bermakna jika $p < 0,05$, kemudian dilanjutkan dengan *Spearman Test* untuk mengetahui hubungan kepadatan CD8 di sekitar sel-sel tumor dengan kepadatan CD8 di perifer.

HASIL

Karakteristik Klinikopatologik Terhadap Subtipe DLBCL

Kepadatan CD8 yang berada di sekitar sel-sel tumor maupun di perifer pada kasus DLBCL subtipe GCB dan non-GCB dapat dilihat pada pemeriksaan imunohistokimia (Gambar 1).

Analisis deskriptif terhadap karakteristik klinikopatologik ditunjukkan oleh Tabel 1. Hasil analisis menunjukkan distribusi berdasarkan usia didapatkan bahwa pada usia ≤ 60 tahun adalah usia terbanyak yaitu sebanyak 30 orang (75%), dengan usia tertua 80 tahun dan usia termuda 5 tahun. Pada penelitian ini didapatkan bahwa subtipe DLBCL yang terbanyak adalah non-GCB sebanyak 29 kasus (72,5%) dan subtipe GCB sebanyak 11 kasus (27,5%). Non-GCB merupakan subtipe terbanyak baik pada kelompok usia ≤ 60 tahun dan >60 tahun, yaitu sebanyak 22 kasus (73,3%) dan 7 kasus (70%).



Gambar 1. Pewarnaan imunohistokimia CD8 pada DLBCL subtipe GCB di sekitar sel-sel tumor (A) dan perifer (B). Pewarnaan imunohistokimia CD8 pada DLBCL subtipe non-GCB di sekitar sel-sel tumor (C) dan perifer (D).

Subjek penelitian lebih banyak berjenis kelamin laki-laki yaitu 25 orang (62,5%). Distribusi lokasi tumor lebih banyak ditemukan pada lokasi ektranodal yaitu 22 kasus (65%), sedangkan lokasi di nodal sebanyak 18 kasus (45%). Subtipe terbanyak baik pada nodal maupun ektranodal adalah non-GCB, masing-masing sebanyak 72,22% dan 72,72% kasus. Pada penelitian ini hanya dijumpai dua varian DLBCL yaitu varian sentroblastik dan imunoblastik, namun tidak dijumpai varian anaplastik. Di antara ketiga varian ini, varian sentroblastik merupakan varian terbanyak sebanyak 36 kasus (90%), diikuti varian imunoblastik sebanyak 4 kasus (10%). Sebagian besar varian sentroblastik dan imunoblastik memiliki subtipe non-GCB yaitu sebanyak 72,2% dan 75% kasus. Sebagian besar kasus yaitu sebanyak 30 kasus (75%) memiliki indeks proliferasi Ki-67 yang sangat tinggi dan 73,33% di antaranya merupakan subtipe non-GCB.

Untuk melakukan penilaian korelasi antara karakteristik klinikopatologik dengan masing subtipe DLBCL maka dilakukanlah uji *Chi-Square* dan dianggap bermakna jika nilai $p < 0,05$. Dari penilaian tersebut didapatkan bahwa korelasi antara semua karakteristik klinikopatologik yang meliputi umur, jenis kelamin, lokasi tumor, varian DLBCL dan Ki-67 dengan subtipe DLBCL menunjukkan hasil yang tidak signifikan (Tabel 1).

Tabel 1. Karakteristik klinikopatologik terhadap subtipe DLBCL

Klinikopatologi	Subtipe		N	(%)	p*
	GCB	Non-GCB			
Umur					
≤60 tahun	8	22	30	75%	p=0,100
>60 tahun	3	7	10	25%	
Jenis kelamin					
Laki-laki	9	16	25	62,5%	p=0,158
Perempuan	2	13	15	37,5%	
Lokasi					
Nodal	5	13	18	45%	p=0,100
Ektranodal	6	16	22	65%	
Varian					
Sentroblastik	10	26	36	90%	p=0,100
Imunoblastik	1	3	4	10%	
Anaplastik	0	0	0	0%	
Ki-67					
Tinggi	3	7	10	25%	P=0,100
Sangat tinggi	8	22	30	75%	

**Chi-Square Test, p significant <0.05*

Distribusi Kepadatan CD8 Di Antara Subtipe DLBCL

Analisis bivariat (Tabel 2) menentukan kepadatan TILs CD8+ yang berada di sekitar sel-

sel tumor dan perifer pada masing-masing subtipe DLBCL dengan menggunakan uji

alternative Mann-Whitney U test, nilai *p* dianggap bermakna jika $p < 0,05$.

Tabel 2. Distribusi kepadatan CD8 di antara subtipe DLBCL

Lokasi	GCB					Non-GCB					p*
	n	Median	Std. deviasi	Min	Max	n	Median	Std. deviasi	Min	Max	
Sekitar sel tumor	11	35,00	29,657	8,8	90,6	29	18,6	18,150	6,8	76,4	0,082
Perifer	11	101,2	54,722	26,2	170,6	29	53,60	44,167	18,8	224,2	0,178

**Mann Whitney Test, p significant < 0.05*

Kepadatan CD8 di sekitar sel-sel tumor pada subtipe GCB yaitu $35,00 \pm 29,657$ dan $18,6 \pm 18,15$ pada non-GCB, sedangkan kepadatan CD8 di perifer pada subtipe GCB yaitu $101,2 \pm 54,722$ dan $53,60 \pm 44,167$ pada non-GCB. Walaupun subtipe GCB memiliki kepadatan CD8 yang lebih tinggi dibanding subtipe non-GCB baik di sekitar sel-sel tumor maupun di perifer namun tidak memiliki hubungan yang signifikan ($p=0,082$ dan $p=0,178$).

Kepadatan CD8 ditemukan lebih tinggi di perifer dibandingkan di sekitar sel-sel tumor. Pada subtipe GCB, median kepadatan pulasan ekspresi CD8 di perifer adalah 101,2 (26,2-170,6) lebih tinggi dibandingkan ekspresi CD8 di sekitar sel-sel tumor sebesar 35,0 (8,8-90,6). Demikian juga untuk subtipe non-GCB, median kepadatan pulasan ekspresi CD8 di perifer adalah 53,6 (18,8-224,2) lebih tinggi dibandingkan ekspresi CD8 di sekitar sel-sel tumor yaitu sebesar 18,6 (6,8-76,4).

Untuk mengetahui apakah terdapat hubungan antara kepadatan CD8 di sekitar sel-sel tumor maupun di perifer, maka dilakukan uji korelasi Spearman (Tabel 3). Uji korelasi Spearman nilai *p* signifikan jika $< 0,05$. Secara keseluruhan (pada seluruh kasus DLBCL: GCB dan non-GCB) ditemukan bahwa ekspresi CD8 di sekitar sel-sel tumor berkorelasi kuat dengan ekspresi CD8 di perifer ($r=0,731$, $p=0,000$). Bila ditelaah lebih lanjut berdasarkan subtipe, hubungan korelasi ini ternyata lebih kuat terjadi pada subtipe GCB ($r=0,727$; $p=0,011$) dibandingkan pada subtipe non-GCB ($r=0,702$; $p=0,000$).

Tabel 3. Hubungan kepadatan CD8 di sekitar sel-sel tumor dengan CD8 perifer.

Korelasi antara CD8 di sekitar sel-sel tumor dan di perifer	n	r	p*
GCB	11	0,727	0,011
Non-GCB	29	0,702	0,000
Subtipe Total (GCB+Non-GCB)	40	0,731	0,000

**Spearman Test, p significant < 0.05*

DISKUSI

Pembagian kelompok usia pada penelitian ini berdasarkan pembagian kelompok usia yang digunakan pada *International Prognostic Index (IPI)*.¹¹ Pada DLBCL, IPI index merupakan alat utama untuk menentukan prognosis dan kelompok usia penderita diatas 60 tahun merupakan salah satu faktor risiko. Walau hasil penelitian ini tidak sejalan dengan WHO yang menyatakan bahwa umumnya DLBCL terjadi pada usia tua, dengan usia rerata sekitar dekade ketujuh. Namun penelitian ini sejalan dengan *Perry et al*, yang menemukan bahwa penderita NHL terutama DLBCL di Asia umumnya diderita oleh kelompok usia yang lebih muda. Hal ini dapat disebabkan oleh berbagai faktor di antaranya pola hidup, pola makan, serta faktor lainnya yang belum diketahui, sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut untuk melihat pergeseran usia ini.^{3,12} Menurut *Hedstrom et al*, terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok usia muda dengan usia >60 tahun, di mana usia >60 tahun umumnya menunjukkan prognosis yang buruk.¹³ Sama halnya dengan penelitian *Ship MA et al*, yang menyatakan bahwa kelompok usia muda memiliki prognosis yang lebih baik dibanding usia tua.¹¹

Menurut WHO frekuensi subtipe GCB penderita DLBCL di Asia lebih rendah dibanding subtipe non-GCB, hal ini dikarenakan frekuensi dari subtipe GCB dan non-GCB didasarkan oleh letak geografik, usia tengah penderita, dan metodologi penelitian yang digunakan dan hal ini sejalan dengan penelitian ini.³ Selain itu, penelitian ini juga sejalan dengan penelitian *Gouveia et al*, yang menunjukkan bahwa DLBCL umumnya terjadi lebih banyak pada laki-laki dibanding perempuan. Hal tersebut kemungkinan disebabkan karena laki-laki memiliki faktor predisposisi yang lebih banyak seperti merokok dan alkohol.¹

Walaupun jenis kelamin tidak termasuk ke dalam sistem prognostik DLBCL, namun berdasarkan penelitian meta-analisis yang dilakukan oleh Yildirim *et al.*, menunjukkan bahwa jenis kelamin laki-laki berhubungan dengan prognosis yang buruk pada pasien DLBCL yang diterapi dengan regimen yang mengandung *rituximab*.¹⁴ Castillo *et al.*, juga menyatakan bahwa jenis kelamin laki-laki merupakan indikator prognostik buruk pada analisis multivariat pasien-pasien yang berasal dari Asia.¹⁵

Penelitian ini menunjukkan bahwa varian terbanyak adalah varian sentroblastik dan terbanyak ditemukan pada subtipe non-GCB. Hal ini tidak sejalan dengan WHO yang menyatakan bahwa varian sentroblastik lebih banyak dijumpai pada subtipe GCB, di mana baik varian sentroblastik maupun subtipe GCB berhubungan dengan prognosis yang baik.¹ Rosenwald *et al.*, juga menyatakan bahwa umumnya varian imunoblastik seringkali ditemukan pada subtipe non-GCB.¹⁶

Menurut WHO, kejadian DLBCL dapat terjadi di nodal maupun ekstranodal, walaupun kejadian terbanyak berada di nodal dan hanya sekitar 40% kasus yang berada di ekstranodal, namun penelitian ini menunjukkan bahwa kejadian DLBCL sedikit lebih banyak di ekstranodal dibanding di nodal.³ Lokasi nodal berhubungan dengan prognosis yang buruk. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh level genomik yang berbeda antara DLBCL yang berlokasi di nodal dan ekstranodal, namun perbedaan level genomik ini tidak disebabkan oleh subtipe GCB dan non-GCB di antara keduanya, dan menurut Al Humood *et al.*, tidak ada perbedaan yang signifikan antara lokasi dengan subtipe DLBCL.¹⁷ Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Shen *et al.*, DLBCL yang berlokasi di ekstranodal umumnya memiliki subtipe non-GCB, walaupun demikian *3 year survival* untuk subtipe GCB tidaklah lebih tinggi dibanding non-GCB.¹⁸

Indeks proliferasi Ki-67 pada penelitian ini berkisar antara 50% sampai 100%, dengan nilai rerata 79%. Untuk menentukan prognosis DLBCL berdasarkan indeks proliferasi Ki-67, maka Broyde *et al.*, membagi menjadi kategori tinggi (Ki-67 40-70%) dan sangat tinggi (Ki-67 >70%).¹⁹ Hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Perry *et al.*, yang menunjukkan bahwa Ki-67 dengan derajat sangat tinggi

lebih banyak terjadi pada negara berkembang dibanding negara maju dan masih belum diketahui dengan jelas apa penyebabnya.

Pada penelitian ini kategori Ki-67 sangat tinggi didominasi oleh subtipe non-GCB. Menurut Li *et al.*, tingginya indeks Ki-67 pada subtipe non-GCB berhubungan dengan rendahnya *progression free survival* (PFS) dan *overall survival* (OS) jika dibandingkan dengan subtipe GCB. Pada subtipe non-GCB dengan Ki-67 yang sangat tinggi juga bisa menjadi prediktor prognosis pada DLBCL.²⁰

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kepadatan TIL CD8⁺ lebih tinggi pada subtipe GCB dibanding non-GCB baik di sekitar sel-sel tumor maupun di perifer dan menggunakan uji *Mann Whitney* menunjukkan hubungan yang tidak signifikan. Hal ini berbanding terbalik dengan penelitian yang dilakukan oleh Pericart *et al.*, di mana kepadatan TILs CD8⁺ lebih banyak ditemukan pada subtipe non-GCB, walaupun belum diketahui dengan pasti apakah sel limfosit yang berada di sekitar sel-sel tumor ataupun di perifer yang mengekspresikannya, oleh karena itu tetap diperlukan pemeriksaan terhadap molekul inhibitor pada *immune checkpoint*, seperti PD-1 dan PD-L1.²¹

Didapatkan bahwa kepadatan TILs CD8⁺ di perifer lebih tinggi dibanding di sekitar sel-sel tumor. Hal ini sesuai dengan penelitian oleh Baptista *et al.*, yang menunjukkan bahwa TILs CD8⁺ lebih banyak ditemukan di perifer dibanding di sekitar sel-sel tumor, hal ini mungkin dikarenakan di area perifer fungsi TILs CD8⁺ masih belum terganggu sehingga dapat melindungi sel inang dari perkembangan kanker. Sebaliknya, fungsi TILs CD8⁺ di sekitar sel-sel tumor telah berkurang dengan adanya massa tumor dan molekul *immune checkpoint*, di antaranya PD-1 dan PD-L1.²² Selain itu adanya MDSC (*myeloid derived suppressor cell*) yang direkrut oleh sel-sel tumor dapat memblokir infiltrasi sel T CD8⁺ melalui penekanan sekresi IL-12.⁸ Akumulasi MDSC yang berlebih di lingkungan mikrotumor berhubungan dengan blokade ikatan antara PD-1 dan PD-L1 sehingga aktivitas limfosit T menjadi terhambat dan sel limfosit T menjadi *anergy*.²³

Pada penelitian ini juga didapatkan hubungan yang signifikan dengan nilai kekuatan korelasi kuat pada CD8 di sekitar sel-sel tumor dengan CD8 di perifer. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi kepadatan CD8 di perifer

akan diikuti dengan semakin tingginya kepadatan CD8 di sekitar sel-sel tumor, meskipun belum tentu limfosit sekitar sel-sel tumor tersebut fungsional.^{23,24} Sehubungan hal ini perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk membuktikan perbedaan fungsi antara kepadatan limfosit T di sekitar dan jauh dari sel-sel tumor, misalnya dengan melihat beberapa molekul *co-inhibitory* dan *co-activation* pada sel limfosit T tersebut.

KESIMPULAN

Secara signifikan, kepadatan TILs CD8+ lebih tinggi di perifer dibanding di sekitar sel-sel tumor dan didapatkan hubungan yang signifikan dengan nilai kekuatan korelasi kuat pada CD8 di sekitar sel-sel tumor dengan CD8 perifer.

DAFTAR PUSTAKA

1. Gouveia GR, Siqueira SA, Pereira J. Pathophysiology and molecular aspects of diffuse large B cell lymphoma. *Rev Bras Hematol Hemoter.*2012;34:447-51.
2. Azzaoui I, Uhel F, Rossile D, Pangault C, Dulong J, Priol JL, *et al.* T cell defect in diffuse large B cell lymphoma involves expansion of myeloid derived suppressor cells. *Blood.* 2016;128:1081-91.
3. Gascoyne RD, Campo E, Jaffe ES, Chan WC, Chan JKC, Rosenwald A, *et al.* Diffuse large B cell lymphoma, NOS. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Piler SA, Stein H. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. 4th ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer (IARC); 2017.p291-6.
4. Campo E, Jaffe ES, Harris NE. Normal lymphoid organs and tissues. In: Campo E, Jaffe ES, Harris NE, Arber DA, Quintanilla-Martinez L, editors. *Hematolymphoid.* 2nd ed. New York; 2017.p131-524.
5. Cunningham D. Rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisolone in patients with newly diagnosed diffuse large B cell non hodgkin lymphoma: a phase 3 comparison of dose intensification with 14 day versus 21day cycles. *Lancet.* 2013; 381: 1817-26.
6. Kwak JY. Treatment of diffuse large B cell lymphoma. *Korean J Int Med.* 2012;27:369-77.
7. Maimela NR, Liu S, Zhang Y. Fates of CD8+ T cells in tumor microenvironment. *Comput Struct Biotechnol J.* 2018;17:1-13.
8. Santoemma PP, Powell DJ. Tumor infiltrating lymphocytes in ovarian cancer. *Cancer Biol Ther.* 2015;16:807-20.
9. Steele KE, Tan TH, Korn R, Dacosta K, Brown C, Kuziora M, Wiestler T, *et al.* Measuring multiple parameters of CD8+ tumor infiltrating lymphocytes in human cancers by image analysis. *J. Immunotherapy Cancer.* 2018;6:20.
10. Quail DF, Joyce JA. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis. *Nat Med.* 2013;19:1423-37.
11. Shipp Ma. The international non hodgkin's lymphoma prognostic factors project. A predictive model for aggressive non hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med.* 2013;329:987-94.
12. Perry AM, Diebold J, Nathwani BN, MacLennan KA, Müller-Hermelink HK, Bast M, *et al.* Non Hodgkin lymphoma in developing world: review of 4539 cases from the international non Hodgkin lymphoma classification project. *Hematologica.* 2016;101:1244-50.
13. Hedstrom G, Hagberg O, Jerkeman M, Enblad G. The impact of age on survival of diffuse large B-cell lymphoma-a population-based study. *Acta Oncol.* 2015;54:916-23.
14. Yildirim M, Kaya V, Demirpence O, Paydas S. The role of gender in patients with diffuse large B cell lymphoma treated with rituximab-containing regimens: a meta analysis. *Arch Med Sci.* 2015;11:708-14.
15. Castillo JJ, Sinclair N, Beltrán BE, Song MK, Ilic I, Leppa S, *et al.* Similar outcomes in Asian and Western patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. *Leuk Res.* 2013;37: 386-91.
16. Rosenwald A, Wright G, Chan WC, Connors JM, Campo E, Fisher RI, *et al.* The use of molecular profiling to predict survival after chemotherapy for diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med.* 2002;346:1937-47.
17. Al-Humood SA, Al-Qallaf AS, AlShemmari SH, Francis IM, Junaid TA, Marouf RA, *et al.* Genotypic and phenotypic differences between nodal and extranodal diffuse large B-cell lymphoma. *J Histochem Cytochem.* 2011; 59: 918-31.
18. Shen H, Wei Z, Zhou D, Zhang D, Zhang Y, Han X, *et al.* Primary extra-nodal diffuse large B-cell lymphoma: a prognostic analysis of 141 patients. *Oncol Lett.* 2018;16:1602-14.
19. Broyde A, Boycov O, Sternov Y, Okon E, Spilberg O, Bairey O. Role and prognostic

- significance of the Ki-67 index in non-hodgkin's lymphoma. *Am J Hematol.* 2009;84:338-43.
20. Li ZM, Huang JJ, Xia Y, ZhuYJ, Zhao W, Wei WX, *et al.* High Ki67 expression in diffuse large B-cell lymphoma patients with non germinal center subtype indicates limited survival benefit from R-CHOP therapy. *Eur J Haematol.* 2012;88:510-7.
 21. Pericart S, Tosolini M, Gravelle P, Rossi C, Glehen AT, Amara N, *et al.* Profiling immune escape in hodgkin's and diffuse large B-cell lymphomas using the transcriptome and immunostaining. *Cancers (Basel).* 2018;10:415: 1-17.
 22. Baptista MZ, Sarian LO, Derchain SF, Pinto GA, Vassallo J. Prognostic significance of PD-L1 and PD-L2 in breast cancer. *Hum Pathol* 2016;47:78-84.
 23. Shi T, Ma Y, Yu L, Jiang J, Shen S, Hou Y, *et al.* Cancer immunotherapy: a focus on the regulation of immune checkpoint. *Int J Mol Sci.* 2018;19:1-15.
 24. Crespo J, Sun H, Welling TH, Tian Z, Zou W. T cell anergy, exhaustion, senescence, and stemness in the tumor microenvironment. *Curr Opin Immunol.* 2013;25:214-21.